

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Universität Basel
(Direktor: Prof. Dr. H. LÖFFLER)
und dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. E. HESS)

Wirkung der Thymusexstirpation auf Blutbild und Antikörperproduktion beim Hamster

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Veterinär-medizinischen
Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

SANDOR LAZÁRY

von Ungarn

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. E. HESS

Zürich 1966



BASEL (Schweiz)

S. KARGER

NEW YORK

Herrn Professor Dr. *H. Löffler*, unter dessen Leitung ich die vorliegende Arbeit ausführte, danke ich für das überlassene Thema, für seine immer freundliche Hilfe und die vielen Anregungen.

Herrn Professor Dr. *E. Hess* danke ich für sein Interesse an der Arbeit; während der ganzen Dauer der Versuche half er mit Rat und wertvollen kritischen Diskussionen.

Frau Prof. *Hess* hat mir die Ergebnisse überprüft, in Tabellen zusammengefaßt und graphisch dargestellt. Für ihren Beistand möchte ich ihr herzlich danken.



Einleitung

Die physiologische Bedeutung des Thymus war bis in den letzten Jahren ungewiß. Die Beobachtungen, daß die corticalen Lymphozyten und die Hassalschen Körperchen nach der Pubertät im Thymus zahlenmäßig zurückgehen, ferner daß das relative Gewicht des Thymus in den ersten Lebenswochen am größten ist, führten zur Annahme, daß seine Funktion mit der Physiologie des jugendlichen Organismus in Zusammenhang stehe. Die experimentellen Arbeiten zur Abklärung der Funktion des Thymus wurden an 3—6 Wochen alten Jungtieren, hauptsächlich an Nagern, durchgeführt. Die Thymusexstirpation hatte in diesem Stadium außer einer signifikanten und dauernden Lymphopenie keine anderen Ausfallerscheinungen zur Folge.

1961 hat *Miller* [7] als erster die Thymusexstirpation an *neugeborenen* Mäusen innert 24 Stunden nach der Geburt ausgeführt. Im Gegensatz zu den Kontrolltieren verarmten die neonatal thymektomierten Tiere an Lymphozyten. *Jankovic* u. Mitarb. [5], *Good* u. Mitarb. [3], *Roosa* u. Mitarb. [10] sowie *Sherman* u. Mitarb. [12] haben bei neonatal thymektomierten Ratten, Kaninchen und Hamstern ebenfalls Lymphopenie konstatiert. *Miller* und andere [3, 5, 7, 8, 10, 12] konnten nachweisen, daß die Thymusexstirpation bei neugeborenen Nagern auch eine dauernde Schwächung der immunologischen Reaktionsfähigkeit hinterläßt. *Defendi* u. Mitarb. [2] thymektomierten neugeborene Hamster und

infizierten sie mit Polyomavirus. Die thymektomierten Tiere produzierten im Vergleich zu den Kontrolltieren weniger haemagglutinationshemmende Antikörper gegen das Virus. Nach *Sherman* u. Mitarb. [13] bildeten auch Hamster, die erst am 14. Lebenstag thymektomiert worden waren, weniger Antikörper als die Kontrolltiere. Haut-, Homo- und Heterotransplantate wurden von thymektomierten Tieren verzögert abgestoßen [10—13].

Als fast regelmäßige Folge der neonatalen Thymektomie wurde bei Mäusen ein eigentümliches Krankheitsbild, die sog. «wasting disease» beschrieben [7]. Die Jungen entwickelten sich nach der Operation bis zur 3.—4. Lebenswoche scheinbar normal, dann traten etwa gleichzeitig mit der Entwöhnung bei der Mehrzahl der Tiere folgende Symptome auf: Wachstumshemmung, Gewichtsverlust, struppiges Fell, Haarausfall, Kopfoedem, Durchfall, Kauerhaltung; innerhalb von 1—2 Wochen starben die Tiere.

Die Mitteilungen über Häufigkeit und geschlechtliche Verteilung der «wasting disease» bei Hamstern sind widersprechend. *Sherman* u. Mitarb. [12, 14, 15] berichteten 1963, daß die neonatal vorgenommene Thymektomie im Verlauf von 4 Wochen bei 36—75% der männlichen Versuchstiere eine «wasting disease» verursacht, welche innert 1—3 Wochen tödlich endet, während die Krankheit bei weiblichen Tieren nie beobachtet wurde; bemerkenswert ist, daß diese Forschergruppe mit Inzucht-Hamstern gearbeitet hat. Bei nicht ingezüchteten Hamstern beobachteten *Roosa* u. Mitarb. [11] «wasting disease» nur bei 10% der neonatal operierten Tieren; der Verlauf war sehr leicht, indem sich einzelne Tiere nach einer gewissen Zeit erholten. Thymektomie von einwöchigen oder älteren Tieren führte nicht mehr zu «wasting disease». Auch bei keimfrei aufgezogenen und keimfrei gehaltenen Mäusen führte Thymektomie niemals zu «wasting disease» [6, 16].

Eigene Versuche:

Die vorliegende Arbeit hat folgendes Ziel:

A. Untersuchung der Thymektomiewirkung bei Hamstern, und zwar bei neugeborenen und bei zweiwöchigen Tieren, hinsichtlich:

a) Blutbild;

b) Fähigkeit, gegen *Salmonella paratyphi* B, bzw. Influenza-virus B zirkulierende Antikörper zu bilden;

c) Frequenz der «wasting disease».

Als Kontrolle dienen unbehandelte und scheinoperierte Tiere.

B. Untersuchung hinsichtlich eventueller Kompensation der Ausfallserscheinungen durch Thymustransplantation, bzw. -reimplantation. Dabei werden besonders der Einfluß des Alters des Spendertieres und der Einfluß des Implantationsortes (subcutan oder intraperitoneal) berücksichtigt.

Material und Methodik

Versuchstiere: Für die vorliegende Arbeit wurden syrische Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) beiderlei Geschlechts aus eigener Zucht verwendet. Die Muttertiere wurden 4—8 Tage vor dem Werfen in Einzelkäfige gebracht. In der vierten Woche nach der Geburt wurden die Jungen von den Muttertieren getrennt.

Thymektomie, Scheinoperation und Thymustransplantation: Die Neugeborenen wurden 16—20 Stunden nach Geburt thymektomiert bzw. scheinoperiert (Kontrolltiere). Die Jungen wurden in einer Petrischale bei -18°C während 5—8 Min. unterkühlt. Anschließend wurden sie herausgenommen und während des Atemstillstandes, der infolge der Unterkühlung eingetreten war und ca. 12—15 Min. dauerte, bei Zimmertemperatur operiert. Das Sternum wurde stumpf freipräpariert und bis auf die Höhe der 4. Rippe median gespalten. Mittels feiner Pinzetten wurden die beiden Thymuslappchen durch stumpfe Präparation möglichst vollständig freigelegt, anschließend in eine Kapillarpipette angesaugt und unter Zuhilfenahme einer Pinzette entfernt. In den meisten Fällen löste sich ein Thymuslappchen in einem Stück. Die Haut wurde mit Seide fortlaufend genäht. Die Jungen wurden dann auf 37°C erwärmt und dem Muttertier zurückgegeben. Die Scheinoperation verlief gleich, nur blieb die Thymusentfernung aus. Die Operation wurde unter Kontrolle mittels Dissektionsmikroskop (Vergrößerung $20\times$) ausgeführt. Eine kleine Gruppe von Tieren wurde erst zwei Wochen nach der Geburt thymektomiert bzw. scheinoperiert. Anstelle der Unterkühlung wurde eine Anaesthetie mit Nembutal (6%ige Lösung, 0,010—0,015 ml i.p./Tier) durchgeführt. Im übrigen wurde nach obiger Technik verfahren.

Thymusimplantationen wurden bei einer Gruppe neonatal thymektomierter Tiere am 10.—11. bzw. 30. Lebenstag durchgeführt. Die Spendertiere waren 10—12 Std. bzw. 7 Tage alt. Die steril und intakt entnommenen Thymuslappchen wurden in Hankssche Lösung gebracht, mittels einer Spritze und relativ dicker Kanüle (je nach Größe des Thymus) aus der Hanksschen Lösung aufgezogen und den Empfängertieren subcutan am Rücken gespritzt. Kanüle und Spritze wurden jedesmal auf Reste von Thymusgewebe kontrolliert. Jedes Empfängertier hat die zwei Lappchen von einem gleichgeschlechtlichen Spender-

tier erhalten. In einer anderen Versuchsgruppe wurde den Neugeborenen anschließend an die Thymusexstirpation der eigene Thymus intraperitoneal reimplantiert.

Einer weiteren Gruppe von neonatal thymektomierten Tieren wurden zwei Thymusläppchen von neugeborenen Tieren in Millipore-Diffusionskammern am 16. bzw. 30./31. Lebenstag intraperitoneal implantiert.

Blutentnahme und Blutbildkontrolle: Das Blut für morphologische und für serologische Untersuchung wurde aus dem Venen-Plexus der Orbita mittels eines Kapillarröhrchens entnommen. Leichte Aethernarkose war erforderlich. Vor Einstecken des Kapillarröhrchens in den Plexus wurde die Conjunctiva mit einem Gaze-Stück leicht gereinigt. Die Blutentnahme wurde immer zwischen 11 und 16 Uhr ausgeführt. Am Ende des Versuchs wurden die Tiere unter tiefer Aethernarkose durch Herzpunktion entblutet.

Blut für die qualitative und quantitative Blutbestimmung wurde bei jeder Gruppe gleichzeitig mit der ersten Antigeninjektion entnommen. Die Leukozyten im Blut wurden quantitativ in der Zählkammer nach Neubauer bestimmt. Zur qualitativen Auszählung wurden Ausstriche nach Pappenheim gefärbt.

Aktive Immunisierungsversuche und Antikörpertitration:

Antigen: Salmonella paratyphi B, O: (I), IV, (V), XII, H: b. Das Antigen wurde vom Seruminstitut Bern bezogen.

Influenzavirus B/Singapur/64 wurde in der Allantoishöhle vorbebrüteter Hühnereier gezüchtet. Die geerntete, virushaltige Allantoisflüssigkeit wurde bis zum Gebrauch in 2 ml-Ampullen bei -18°C aufbewahrt. Der Hämagglutinititer des Antigens, bestimmt an 1%iger Hühnererythrozytensuspension, betrug 1 : 256.

Das gesamte Tiermaterial wurde je nach Immunisierungsverfahren in vier Gruppen geteilt.

Gruppe A: 77 Tiere.

Antigen: Salmonella paratyphi B; 3 Injektionen am 58./60., 62./64. und 66./68. Lebenstag.

Blutentnahme 10 Tage nach der letzten Antigenbehandlung.

Gruppe B: 30 Tiere.

Antigen: Influenzavirus B/Singapur/64; 2 Injektionen am 38./43. und 42./47. Lebenstag.

Blutentnahme 10 Tage nach der zweiten Antigenbehandlung.

Gruppe C: 18 Tiere.

Antigen: Influenzavirus B/Singapur/64; 1 Injektion am 37./39. Lebenstag. Blutentnahme am 4., 8., 12 und 16. Tag nach der Antigenbehandlung.

Gruppe D: 15 Tiere.

Antigen: Influenzavirus B/Singapur/64; 1 Injektion am 32. Lebenstag. Blutentnahme 8 Tage nach der Antigenbehandlung.

Der Antikörper gegen *Salmonella paratyphi* B-Antigen wurde mit der Langsamagglutination ermittelt. Der Antikörpertiter gegen Influenza B/Singapur/64 wurde mittels des Hämagglutinationshemmungstestes auf Plastikplatten ermittelt.

Nach Entblutung wurde bei operierten Tieren das Operationsgebiet auf Eiterungen und auf mögliche Reste von Thymusgewebe untersucht.

Ergebnisse

Gruppe A: Tabelle I zeigt, daß die neonatale Thymektomie eine leichte Leukopenie verursachte, die durch eine Verarmung an Lymphozyten bedingt war. Innerhalb der Lymphozyten wurden die kleinen (bis $8\ \mu$) am meisten betroffen. Gleichzeitig wiesen die polymorphkernigen Neutrophilen bei den neonatal thymektomierten Tieren einen höheren Wert auf als bei den Kontrolltieren. Die Thymektomie bewirkte keine signifikante Veränderung der Anzahl der Eosinophilen und der Monozyten. Die Leukozytenwerte der 7 Scheinoperierten entsprachen denjenigen der nicht operierten Tiere. Die 46 neonatal thymektomierten Hamster mit Thymustransplantationen verhielten sich wie die neonatal thymektomierten Tiere. Beide Gruppen wurden deshalb in der Tabelle I nicht aufgeführt.

TABELLE I

*Durchschnittliche Leukozytenzahl am 60. Lebenstag von 24 Tieren der Gruppe A **

Eingriff	Anzahl Tiere	Total Leukozyten	Davon				Monozyten
			Granulozyten		Lymphozyten		
			neutrophil	eosinophil	Total	bis 8 μ	
keiner	10	7017 (5100– 8350)	1385 (897– 1944)	104 (0– 216)	5328 (3162– 6680)	1230 (765– 1620)	200 (83– 432)
neonatale Thymektomie	14	5714 (4450– 7725)	2263 (1190– 3476)	73 (0– 188)	3251 (2270– 4706)	166 (0– 690)	127 (46– 239)

* In Klammern Grenzwerte.

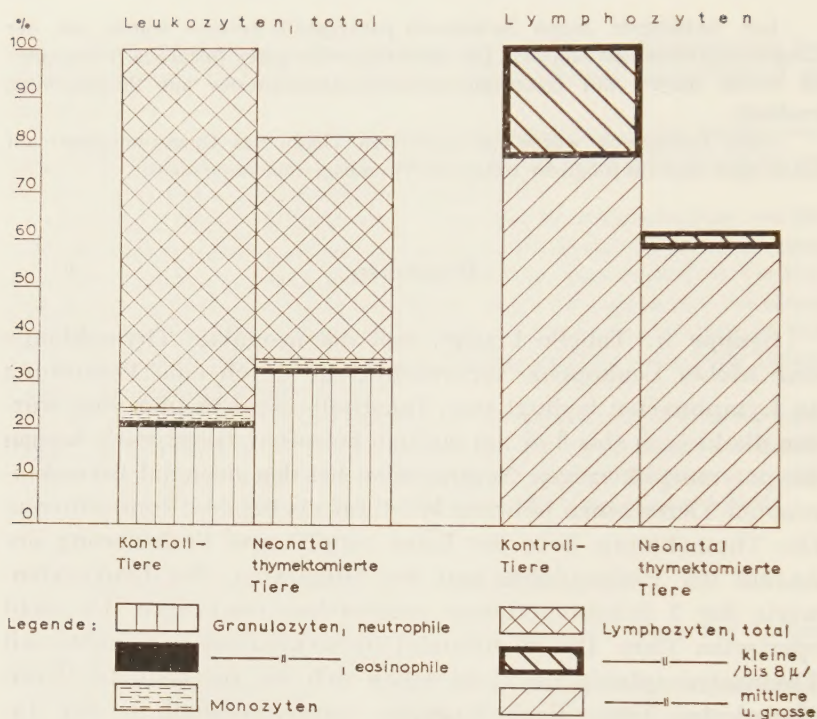


Abb. 1. Wirkung der neonatalen Thymektomie auf Leukozyten- bzw. Lymphozytenzahl am 60. Lebenstag (Durchschnittswerte von 14 neonatal thymektomierten Tieren; die Durchschnittswerte von 10 Kontrolltieren werden als 100% genommen).

Abb. 1 zeigt die Abnahme der Lymphozyten bei gleichzeitiger Vermehrung der Neutrophilen bei thymektomierten Tieren in % der Gesamtzahl der Leukozyten der nicht operierten Kontrolltiere. Besonders signifikant ist der zahlenmäßige Unterschied in bezug auf die kleinen Lymphozyten (bis 8 μ).

Der «O»-Agglutinationstiter war unabhängig von dem vorherigen Eingriff bei allen Tieren 1 : 20 bis 1 : 320 positiv. Die thymektomierten Tiere erreichten durchschnittlich die gleichen Titerwerte wie die Kontrolltiere. In beiden Gruppen war die individuelle Streuung gleich groß. Im Gegensatz dazu war die Fähigkeit der neonatal thymektomierten Tiere, humorale Antikörper gegen das Geißel-Antigen zu bilden, stark beeinträchtigt (Abb. 2).

Wie Abb. 2 und 3 zeigen, hatte die Implantation mit homologem Thymus an neonatal thymektomierten Tieren keinen Einfluß auf die Titerhöhe bzw. auf die Lymphozytenzahl.

Titer											
1:4096											
1:2048	•										
1:1024	••••	•									
1:512	••••	•									
1:256	••••	••			•						
1:128					•						
1:64		•			••					•	
1:32		•			••				••••	•	
1:16		••••			••				••••	••	
1:8		••••••			••				••	••	•
Neq.1:8										••	••
Kontrolltiere		nicht operierte	schein operierte	keine Implantation	subcutan Empl.:10/11 Tage Spender: 1 Tage	subcutan Empl.:10/11 Tage Spender: 7 Tage	subcutan Empl.:30 Tage Spender:1 Tage	subcutan Empl.:30 Tage Spender:7 Tage	l.p. in Diff. Kamm. Empl.:16 Tage Spender:1 Tage	l.p. in Diff. Kamm. Empl.:30/31 Tage Spender: 1 Tage	
		Neonatal thymektomierte Tiere									

Abb. 2. Wirkung der neonatalen Thymektomie und der homologen Thymustransplantation auf die Antikörperproduktion gegen Salmonella paratyphi B (H-Antigen b) nach dreimaliger Immunisierung am 76./78. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

Alle 17 nicht- oder scheinoperierten Kontrolltiere wiesen eine relativ große Zahl von kleinen Lymphozyten (22 bis 56% der mittleren und großen) und gleichzeitig hohe «H»-Agglutinationstiter (1 : 256 und höher) auf (Abb. 4). Alle 60 neonatal thymektomierten, darunter 46 erfolglos mit Thymusimplantat behandelten Tiere zeigten relativ geringe Werte von kleinen Lymphozyten (bis 28% der mittleren und großen) und gleichzeitig niedrige Agglutinationstiter (bei 56 Tieren bis 1 : 64).

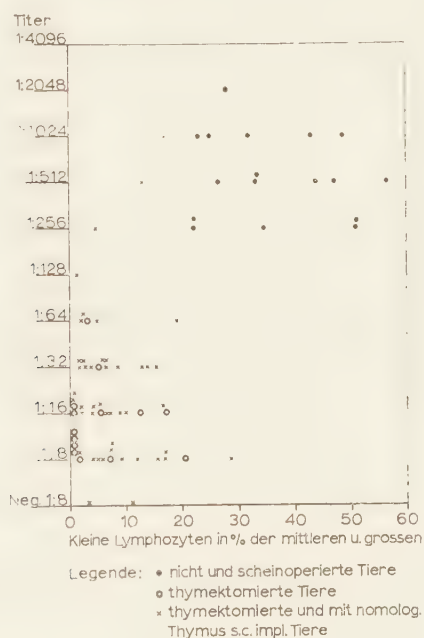


Abb. 4. Wirkung der neonatalen Thymektomie und der homologen Thymustransplantation auf die Antikörperproduktion gegen *Salmonella paratyphi* B, H: «b» Antigen und auf die Anzahl kleiner Lymphozyten im Blut in % der mittleren und großen. Die Immunisierung erfolgte am 58./60., 62./64. und am 66./68. Lebenstag, der Agglutinationstiter wurde am 76./78. Lebenstag bestimmt. Die Blutentnahme für das Blutbild erfolgte am 58./60. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

Gruppe B: Tab. II zeigt, daß die Implantation mit autologem Thymus bei neonatal thymektomierten Tieren einen teilweise substituierten Effekt hatte. Die Lymphozytenzahl, insbesondere die der kleinen Lymphozyten erhöhte sich im Verhältnis zu den lediglich thymektomierten Tieren. Die individuellen Lymphozytenwerte sind aus Abb. 5 ersichtlich.

TABELLE II

*Durchschnittliche Leukozytenzahl am 38./43. Lebenstag der 30 Tiere der Gruppe B**

Eingriff	Anzahl Tiere	Total Leukozyten	Davon		Lymphozyten		Monozyten
			Granulozyten neutrophil	eosinophil	Total	bis 8 μ	
keiner	7	7893 (3250– 12 750)	2613 (455– 8032)	43 (0– 128)	5071 (2697– 7492)	2279 (1040– 3322)	166 (0– 344)
Scheinoperation	8	6546 (3625– 9200)	1291 (291– 3220)	55 (0– 263)	5099 (3298– 6562)	2134 (978– 3519)	101 (0– 291)
neonatale Thymektomie	8	4797 (3825– 6750)	2227 (1575– 3538)	35 (0– 89)	2398 (1741– 4387)	289 (133– 742)	137 (47– 338)
neonatale Thymektomie und eigener Thymus i.p. impl.	7	5764 (4250– 7150)	1875 (905– 3705)	91 (0– 226)	3662 (2507– 4504)	675 (85– 1152)	136 (0– 286)

* In Klammern Grenzwerte.

Abb. 6 zeigt individuell die hämagglutinationshemmenden Seruntiter gegen Influenza B/Singapur/64-Virus der Versuchstiere. Die Titerwerte waren bei neonatal thymektomierten Tieren höchstens 1 : 20 positiv. Die Kontrolltiere zeigten Werte von 1 : 160 und höher. Die Fähigkeit der Tiere mit Thymustransplantaten, Antikörper zu bilden, war teilweise verbessert. Wie Abb. 7 zeigt, nahmen die neonatal thymektomierten und mit dem eigenen Thymus implantierten Tiere in der Korrelation zwischen Antikörpertiter und Anzahl der kleinen Lymphozyten (in % der mittleren und größeren) eine Zwischenstellung zwischen thymektomierten (nicht implantierten) und Kontroll-Tieren ein.

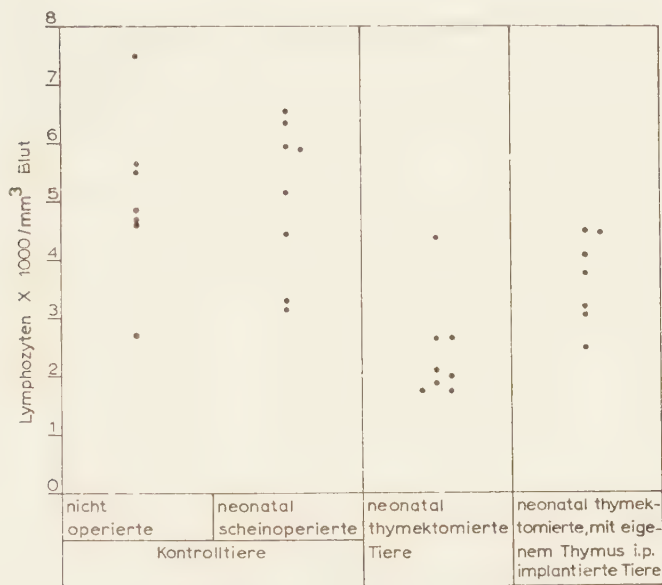


Abb. 5. Wirkung der neonatalen Thymektomie und der autologen Thymusimplantation auf die Lymphozytenzahl im Blut am 38./43. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

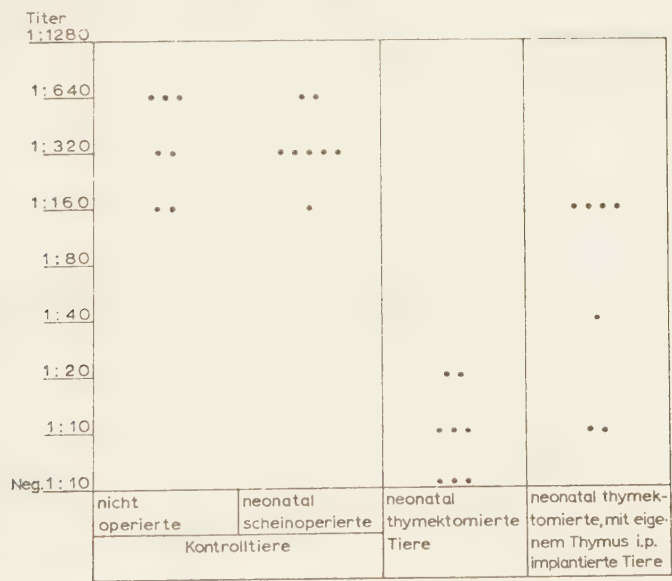


Abb. 6. Wirkung der neonatalen Thymektomie und der autologen Thymusimplantation auf die Produktion haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenzavirus B/Singapur/64 am 52./57. Lebenstag nach zweimaliger Immunisierung. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

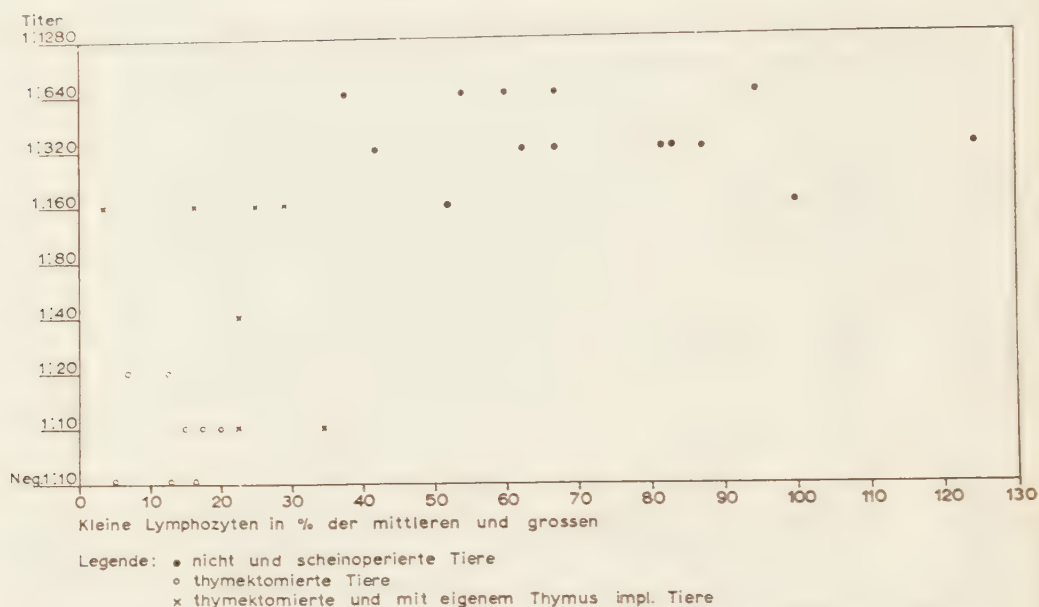


Abb. 7. Wirkung der neonatalen Thymektomie und autologen Thymusimplantation auf die Antikörperproduktion gegen Influenzavirus B Singapur 64 und auf die Anzahl kleiner Lymphozyten im Blut in % der mittleren und grossen. Die Immunisierung erfolgte am 38. 43. und am 43. 47. Lebenstag, der Haemagglutinationshemmungstiter wurde am 52. 57. Lebenstag bestimmt. Die Blutentnahme für das Blutbild erfolgte am 38./43. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

Gruppe C: Wie Tab. III zeigt, wurde in dieser Gruppe auch die Leukopenie der neonatal thymektomierten Tiere durch schwere Verarmung an kleinen Lymphozyten verursacht. In Abb. 8 sind individuell die Lymphozytenzahlen der Versuchstiere eingetragen.

Am 4. Tag nach einmaliger Immunisierung mit lebendem Influenza B/Singapur/64-Virus zeigten die nicht operierten Kontrolltiere alle einen Titer von 1 : 40, die scheinoperierten 1 : 10 bis 1 : 40 und die thymektomierten 1 : 10 bis 1 : 20. Die maximalen Werte wurden am 8. Tag erreicht. Am 12. Tag waren die meisten Werte eine Verdünnungsstufe niedriger, und am 16. Tag sanken die Endtiter weiter ab. Abb. 9 gibt die Titerwerte am 8. Tag nach der Immunisierung wieder.

Gruppe D: Tab. IV zeigt die Abnahme der Lymphozyten, vor allem der kleinen, bei erst am 15. Lebenstag thymektomierten Tieren am 32. Lebenstag. Die Zahl der kleinen Lymphozyten wurde

TABELLE III

*Durchschnittliche Leukozytenzahl am 37./39. Lebenstag von den 18 Tieren der Gruppe C**

Eingriff	Anzahl Tiere	Total Leukozyten	Davon				Monozyten
			Granulozyten		Lymphozyten		
			neutrophil	eosinophil	Total	bis 8 μ	
keiner	6	7271 (4475– 9450)	1053 (632– 2208)	116 (0– 330)	5969 (3714– 8599)	1990 (414– 3880)	133 (0– 276)
Scheinoperation	6	5258 (2875– 6975)	1506 (345– 2651)	11 (0– 63)	3617 (2472– 4254)	1061 (507– 2472)	124 (51– 376)
neonatale Thymektomie	6	3050 (2050– 4225)	939 (349– 1606)	48 (0– 154)	1953 (957– 2502)	62 (0– 114)	110 (39– 221)

* In Klammern Grenzwerte.

TABELLE IV

*Durchschnittliche Leukozytenzahl am 32. Lebenstag von den 15 Tieren der Gruppe D**

Eingriff	Anzahl Tiere	Total Leukozyten	Davon				Monozyten
			Granulozyten		Lymphozyten		
			neutrophil	eosinophil	Total	bis 8 μ	
keiner	7	5478 (3975– 7575)	993 (358– 1388)	101 (0– 190)	4337 (3118– 6060)	1285 (715– 2348)	47 (0– 76)
am 15. Lebens- tag Schein- operation	2	6200 (4800– 7600)	1684 (480– 2888)	62 (48– 76)	4378 (4272– 4484)	1480 (1440– 1520)	76 (0– 152)
am 15. Lebens- tag Thymektomie	6	5483 (3800– 7175)	1702 (1260– 2440)	108 (76– 164)	3650 (2280– 4592)	544 (304– 988)	23 (0– 79)

* In Klammern Grenzwerte.

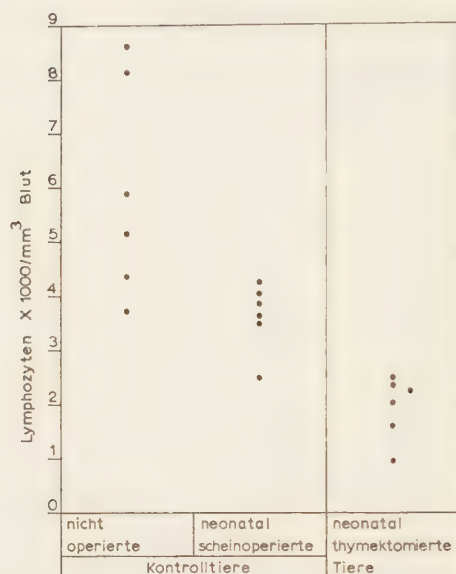


Abb. 8. Wirkung der neonatalen Thymektomie auf die Lymphozytenzahl im Blut am 37./39. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

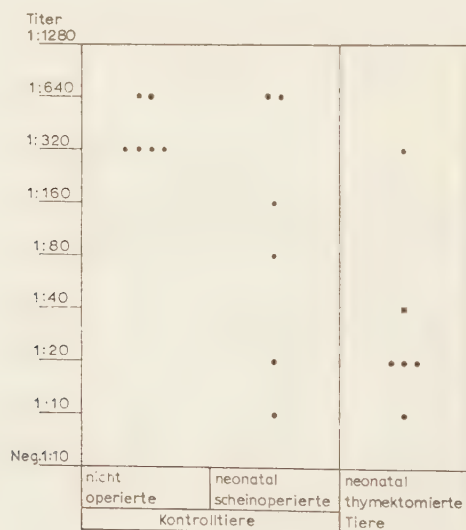


Abb. 9. Wirkung der neonatalen Thymektomie auf die Produktion haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenzavirus B/Singapur/64 am 45./47. Lebenstag, d. h. am 8. Tag nach der Immunisierung. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

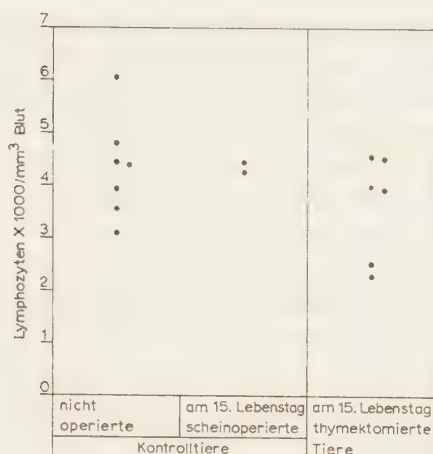


Abb. 10. Wirkung der am 15. Lebenstag ausgeführten Thymektomie auf die Lymphozytenzahl im Blut. Die Blutentnahme für das Blutbild erfolgte am 32. Lebenstag. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

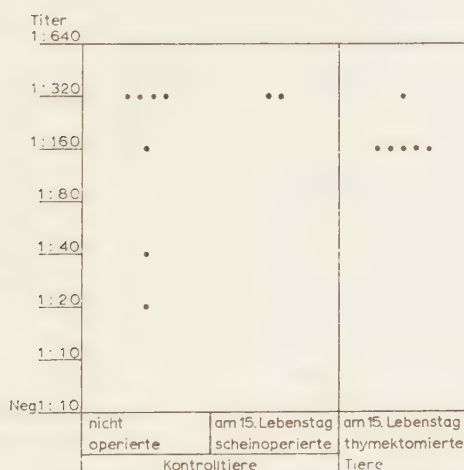


Abb. 11. Wirkung der am 15. Lebenstag ausgeführten Thymektomie auf die Produktion haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenzavirus B/Singapur/64. Die aktive Immunisierung erfolgte am 32. Lebenstag. Das Blut für die serologische Prüfung wurde am 40. Lebenstag entnommen. Jede Signatur repräsentiert ein Tier.

wiederrum am stärksten beeinflusst. Abb. 10 zeigt die individuellen Lymphozytenwerte. Am 15. Lebenstag thymektomierte Tiere, die 17 Tage später immunisiert wurden, schienen in ihrer immunologischen Reaktionsfähigkeit gegenüber den Kontrolltieren nicht beeinträchtigt zu sein (Abb. 11).

Das *Körpergewicht* der thymektomierten Tiere entsprach in allen Altersklassen demjenigen der nicht thymektomierten Kontrolltiere. Nach Obduktion wurde bei einzelnen Tieren die Korrelation zwischen Milz- und Körpergewicht untersucht. Zwischen thymektomierten und Kontroll-Tieren fand sich kein Unterschied.

Während der ganzen Versuchsdauer zeigte keines der thymektomierten Tiere die Symptome der «wasting disease».

Bei der Obduktion war das Operationsfeld stets reizlos. In histologischen Schnitten konnten keine Reste von Thymusgewebe entdeckt werden.

Diskussion

In der Ontogenese der Vertebraten ist der Thymus das zuerst entwickelte lymphatische Organ, und er spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung des übrigen lymphatischen Systems. Später sorgt er für die Erhaltung der normalen Blutlymphozytenzahl. Wird der Thymus früh genug entfernt, was bei den kurztragenden Nagern mit neonataler Exstirpation zu erreichen ist, so können als wichtigste Ausfallserscheinungen Lymphopenie und dauernd geschwächte immunologische Reaktionsfähigkeit nachgewiesen werden. Die durch Lymphopenie bedingte Leukopenie wurde bei neonatal thymektomierten Tieren in jeder Gruppe beobachtet. Innerhalb der Lymphozyten wurde die Zahl der kleinen Lymphozyten am stärksten betroffen. Lymphopenie als Folge der Thymektomie ist auch bei anderen Nagern bekannt und wird mit dem Fehlen der Thymuswirkung erklärt. Die Lymphopenie tritt noch ein, wenn die Exstirpation des Thymus bei heranwachsenden oder erwachsenen Hamstern durchgeführt wird; so hatte die am 15. Lebenstag durchgeführte Operation (Gruppe D) ebenfalls eine Lymphopenie zur Folge.

Die immunologische Reaktionsfähigkeit der Hamster nach neonataler Thymektomie wurde bisher hauptsächlich mit Hilfe von Hauttransplantationsversuchen geprüft [10—12]. Die einzige uns

zur Verfügung stehende Beschreibung über serologische Untersuchungen an neonatal thymektomierten Hamstern wurde mit Polyomavirus durchgeführt [2]. Dabei bildeten die neonatal thymektomierten Tiere fast ebensoviel hämagglutinationshemmende Antikörper wie die Kontrolltiere. In unseren Versuchen wurden die Tiere mit *Salmonella paratyphi* B und Influenzavirus B/Singapur/64 dreimal bzw. zwei- und einmal aktiv immunisiert. Wie in den Ergebnissen beschrieben wurde, waren die neonatal thymektomierten Tiere viel schlechtere Antikörperbildner gegen Influenzavirus B/Singapur/64 und *Salmonella paratyphi* B-Geißel-Antigene. (Die Unterschiede in bezug auf die somatischen Antigene von *Salmonella paratyphi* B waren nicht signifikant.)

Bei Hamstern, die erst in der zweiten Lebenswoche thymektomiert worden waren, konnten wir entgegen den Angaben von *Sherman* u. Mitarb. [13] keinen Zusammenbruch der immunologischen Kapazität beobachten. Nach Angabe von *Sherman* entwickelten nämlich die in der zweiten Lebenswoche thymektomierten Tiere im Anschluß an die 14 Tage später erfolgte Immunisierung mit humanem Gammaglobulin keine oder nur sehr niedrige Titerwerte (1 : 32) im Vergleich zu den Kontrolltieren (1 : 256 — 1 : 2048). Unsere am 15. Lebenstag thymektomierten und am 32. Lebenstag mit Influenzavirus B immunisierten Tiere zeigten ebenso hohe Titerwerte wie die Kontrolltiere. Als einzige Folge der Thymektomie haben wir eine leichte Lymphopenie bemerkt, wobei lediglich die kleinen Lymphozyten betroffen waren. Diese Beobachtung führt uns zur Annahme, daß die Thymektomie bei Hamstern, wie bei Mäusen, kurz nach der Geburt ausgeführt werden muß, wenn die immunologische Fähigkeit der Tiere beeinträchtigt werden soll.

Die Implantationsversuche waren nur zur Hälfte einigermaßen wirksam, nämlich bei jener Gruppe, bei der *autologer* Thymus intraperitoneal implantiert wurde (Abb. 7). Die reimplantierten Tiere zeigten entweder höhere Titerwerte und bzw. oder mehr kleine Lymphozyten im Blut als die lediglich neonatal thymektomierten Tiere. Das weitere Schicksal des implantierten Thymus konnte man morphologisch nicht verfolgen, weil das Implantat bei der Obduktion nicht auffindbar war.

Die *homologen* Thymustransplantationen hatten keinen Effekt auf die neonatal thymektomierten Tiere (Abb. 4). Möglicherweise waren die Empfängertiere im Zeitpunkt der Implantation zu alt,

oder der gewählte Ort (Unterhaut) war für die Thymusimplantation ungünstig. Als dritte Möglichkeit ist noch zu erwähnen, daß die Empfängertiere trotz neonataler Thymektomie doch noch genug immunologische Kapazität gehabt haben könnten, um die fremden Thymusimplantate zu schädigen. Die Tumortransplantationsversuche von *Bealmear* und *Wilson* [1] zeigten an keimfreien Mäusen, daß die Entfernung des Thymus in neonatalem Alter die Transplantationsimmunität der Tiere nicht beeinträchtigt. Nach einer zusätzlichen Belastung des lymphatischen Systems durch Röntgenbestrahlung (in einer Dosis, die bei den nicht thymektomierten Tieren die Transplantationsimmunität noch nicht beeinflußt) waren die Tiere nicht mehr fähig, homologe Tumortransplantate abzustößen. Damit haben die Autoren gezeigt, daß die fehlende Transplantationsimmunität bei neonatal thymektomierten Tieren primär nicht durch das Fehlen des Thymus, sondern sekundär durch weitere Belastung des lymphatischen Systems (Röntgenbestrahlung, pathogene Keime bei konventionell gehaltenen Tieren) hervorgerufen wird.

Die Operationen wurden möglichst aseptisch, aber nicht steril durchgeführt. Der Gebrauch eines Antiseptikums (Vioform, Ciba) im Operationsfeld verhinderte im allgemeinen Wundinfektionen. Nur zwei Tiere mußten wegen lokaler Eiterungen eliminiert werden. Das völlige Fehlen von Symptomen der «wasting disease» kann aber mit der einmaligen Antiseptikumsapplikation kaum erklärt werden. *Hard* u. Mitarb. [4] haben als mögliche Ursache für die «wasting disease» bei neonatal thymektomierten Hamstern vorerst eine latente Virusinfektion vermutet. Spätere Arbeiten [6, 16] bewiesen bei Mäusen, daß die «wasting disease» vollständig fehlt, wenn die Thymektomie an keimfreien Tieren durchgeführt wird und die Tiere weiter unter keimfreien Bedingungen gehalten werden. Die «wasting disease» wird heute allgemein als indirekte Folge der neonatalen Thymektomie erklärt. Die in ihrem lymphatischen System geschwächten Tiere sind wegen verminderten oder fehlenden Immunreaktionen weniger widerstandsfähig gegen Infektionen und Intoxikationen. Den von *Roosa* u. Mitarb. [11] und den hier beschriebenen Beobachtungen stehen diejenigen von *Sherman* u. Mitarb. [15] gegenüber. Letztere berichteten, daß die bis zur 4. Lebenswoche ausgeführte Thymektomie bei 40—75% der männlichen Hamster eine «wasting disease» mit letalem Ausgang hervorruft.

Bei Mäusen ist bekannt, daß einzelne Stämme nach neonataler Thymektomie gegen die «wasting disease» mehr Resistenz zeigen als andere [9]. Diese Beobachtung scheint auch bei den Hamstern zuzutreffen. Die Übereinstimmung in bezug auf Körper- und Milzgewicht bei neonatal thymektomierten und Kontroll-Tieren zeigt, daß unsere thymektomierten Tiere frei von «wasting disease» aufwachsen konnten. In einem eigenen früheren Versuch zeigten neonatal thymektomierte Tiere normale Fortpflanzungsfähigkeit, und die neonatal thymektomierten weiblichen Tiere gebaren ebenso große Würfe wie die Kontrolltiere. Der Verlust von Jungtieren war bei thymektomierten Müttern nicht größer als bei den Kontrolltieren. Diese Beobachtung beweist, daß die Tiere trotz Ausfalls des Thymus nicht tiefgreifend gestört waren — immer vorausgesetzt, daß ihr immunologischer Apparat nicht beansprucht wurde.

Zusammenfassung

Die Wirkung der Thymektomie beim syrischen Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) wurde untersucht anhand des weißen Blutbildes und der Fähigkeit, humorale Antikörper zu bilden. Thymektomie am ersten Tag nach der Geburt hatte Lymphopenie zur Folge, wobei die kleinen Lymphozyten am stärksten betroffen waren. Ferner zeigten neonatal thymektomierte Tiere eine reduzierte Fähigkeit, Serumantikörper gegen *Salmonella paratyphi B* (H-Antigen b) und Influenzavirus B/Singapur/64 zu bilden.

Die erst am 15. Lebenstag ausgeführte Thymektomie verursachte eine leichte Lymphopenie, aber die Fähigkeit der Tiere, Serumantikörper gegen Influenzavirus B/Singapur/64 zu bilden, war nicht beeinträchtigt.

Reimplantation an neonatal thymektomierten Tieren war bei Verwendung von homologem Thymus in allen Fällen wirkungslos; bei Reimplantation von autologem Thymus wurde dagegen teilweise eine Erhöhung der Lymphozytenzahl und eine Steigerung der Antikörperproduktion beobachtet.

Im übrigen erkrankte keines unserer neonatal thymektomierten Tiere an «wasting disease».

Summary

The effect of thymectomy on differential white blood cell counts and humoral antibody formation in hamsters (*Mesocricetus auratus*) was investigated. Thymectomy at the day of birth resulted in lymphopenia affecting predominantly the small lymphocytes. In addition, the neonatally thymectomized animals showed a reduced capacity of antibody production against *Salmonella paratyphi B* (H-antigen b) and influenza virus /Singapore/64.

Thymectomy on day 15 after birth resulted in a slight lymphopenia, but did not affect antibody formation against influenza virus B/Singapore/64.

Literatur

1. *Bealmear, P. M. and Wilson, R.*: Homograft rejection by neonatally thymectomized germfree mice. *Cancer Res.* 27: 358-361 (1967).
2. *Defendi, V.; Roosa, R. A. and Koprowski, H.*: Effect of thymectomy at birth on response to tissue, cells and virus antigens. In: *R. A. Good and A. E. Gabrielson, Thymus in Immunobiology*, p. 504 (Hoerber-Harper, New York 1964).
3. *Good, R. A.; Dalmaso, A. P.; Martinez, C.; Archer, O. K.; Pierce, J. C. and Papermaster, B. W.*: The role of the thymus in development of immunologic capacity in rabbits and mice. *J. exp. Med.* 116: 773-795 (1962).
4. *Hard, R. C.; Martinez, C. and Good, R. A.*: Intestinal crypt lesions in neonatally thymectomized hamsters. *Nature, Lond.* 204: 455-457 (1964).
5. *Jankovic, B. D.; Waksman, B. H. and Arnason, B. G.*: Role of the thymus in immune reactions in rats. *J. exp. Med.* 115: 159-206 (1962).
6. *McIntire, K. R.; Shell, S. and Miller, J. F. A. P.*: Pathogenesis of the post-neonatal thymectomy wasting syndrome. *Nature, Lond.* 204: 151-155 (1964).
7. *Miller, J. F. A. P.*: Immunological function of the thymus. *Lancet ii*: 748-749 (1961).
8. *Miller, J. F. A. P.*: Role of the thymus in transplantation immunity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 99: 340-354 (1962).
9. *Miller, J. F. A. P. und Dukor, P.*: *Die Biologie des Thymus*, p. 34 (Karger, Basel 1964).
10. *Roosa, R. A.; Wilson, D. and Defendi, V.*: Effect of neonatal thymectomy in hamster. *Fed. Proc.* 22: 599 (1963).
11. *Roosa, R. A.; Wilson, D. and Defendi, V.*: Effect of thymectomy on hamsters. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 118: 584-590 (1965).
12. *Sherman, J. D.; Adner, M. M.; Costea, N.; Schwartz, R.; Lewis, F. B. and Dameshek, W.*: The function of the thymus gland in the golden hamster. *Fed. Proc.* 22: 600 (1963).
13. *Sherman, J. D.; Adner, M. M. and Dameshek, W.*: Effect of thymectomy on the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). II. Studies of the immune response in thymectomized and splenectomized non-wasted animals. *Blood* 23: 375-388 (1964).
14. *Sherman, J. D. and Dameshek, W.*: Wasting-disease following thymectomy in the hamster. *Nature, Lond.* 197: 469-471 (1963).
15. *Sherman, J. D.; Adner, M. M. and Dameshek, W.*: Effect of thymectomy on the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). I. Wasting-disease. *Blood* 22: 252-271 (1963).
16. *Wilson, R.; Sjodin, K. and Bealmear, P. M.*: The absence of wasting in thymectomized germfree (Akenic) mice. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 117: 237-239 (1964).

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	65
Eigene Versuche	66
Material und Methodik	67
Versuchstiere	67
Thymektomie, Scheinoperation und Thymustransplantation	67
Blutentnahme und Blutbildkontrolle	68
Aktive Immunisierungsversuche und Antikörpertitration	68
Ergebnisse	69
Diskussion	80
Zusammenfassung	83
Tabellen und Abbildungen	
Literatur	84

Curriculum Vitae

Als Sohn des Sandor Lazáry und der Ida, geb. Karácsonyi, wurde ich am 1. Mai 1935 in Pécs (Ungarn) geboren. Dort besuchte ich die Primarschule und das Gymnasium. Nach bestandener Matura immatrikulierte ich mich im Herbst 1954 an der Veterinärhochschule in Budapest, wo ich 1955 die Propaedeutische, im Sommer 1956 die Anatomisch-physiologische Prüfung ablegte. Im Anschluß an die Ereignisse vom Herbst 1956 in Ungarn emigrierte ich nach Norwegen. An der Veterinärhochschule in Oslo bestand ich am 20. Dezember 1961 mein Staatsexamen als Tierarzt. Vom 1. 1. 1962 bis 31. 12. 1965 war ich als Assistent am Hygienischen Institut der Universität Basel tätig. Seit 1. Januar 1966 bin ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Sandoz AG, Basel, angestellt.